JAN 2 1906

Über einen Antikörper gegen Crotin im normalen Organismus

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Grossherzoglichen Badischen Ruprecht-Carls-Universität zu Heidelberg

vorgelegt

von

Franz Alexander Lust

approb. Arzt aus Frankfurt a. M.

Dekan: Geh. Hofrat Prof. Dr. Knauff

Referent: Prof. Dr. Gottlieb

Braunschweig

Druck von Friedrich Vieweg und Sohn

1904

Meinen lieben Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153311_0024

Über einen Antikörper gegen Crotin im normalen Organismus.

Von Dr. **Franz Alexander Lust.**

Aus dem pharmakologischen Institut zu Heidelberg.

In einer Arbeit über Crotin-Immunität*) hatte Jacoby gefunden, daß Extrakte aus der Magenschleimhaut des Schweines die hämolytische Wirkung des Crotins auf Kaninchenblutkörperchen hemmen. Das Crotin ist bekanntlich ein Phytotoxin, gegen welches nach den Untersuchungen von Morgenroth**) bei der Immunisierung ein Antikörper im Blute erscheint. Die antihämolytische Substanz des Magens ließ sich auch im käuflichen, von Grübler bezogenen Pepsin nachweisen und zeigte bei der vorläufigen Untersuchung folgende Eigenschaften: Sie ist wirksam bei neutraler, sowie bei schwach alkalischer oder schwach saurer Reaktion und verliert diese Eigenschaft beim Kochen nicht. Ganz wie bei den Antitoxinen macht immer eine bestimmte Menge der wirksamen Lösung nur eine bestimmte Menge Crotin unwirksam. Damit war sichergestellt, daß die Substanz weder mit dem Pepsinfermente, noch mit dem von Weinland***) in der Magenschleimhaut aufgefundenen Antipepsin identisch sein kann.

Durch diese Untersuchungen war aber zugleich eine neue Möglichkeit gewonnen, der Frage der Giftresorption vom Magendarmkanal aus näher zu treten. Die Tatsache der Anwesenheit eines Antikörpers in der Wand des normalen Verdauungstraktus hat dazu noch ein gewisses aktuelles Interesse gewonnen durch die im vorigen Jahr veröffentlichte Mitteilung v. Behrings†),

*) Beitr. z. chem. Physiol. **4**, 5. u. 6. Heft 1903.

**) Berl. klin. Wochenschr. (Versamml. d. Charité-Ärzte, 1898, Nr. 12.)

***) Zeitschr. f. Biol. **44**, 1902.

†) Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 39.

wonach der Magendarmkanal des Erwachsenen gewisse Schutzvorrichtungen gegen die Resorption von genuinen Eiweißkörpern und Infektionsstoffen besitzt, die im Säuglingsalter noch nicht vorhanden sind. Auf Behrings Ansichten betreffs der Natur dieser Schutzeinrichtungen sei hier nicht weiter eingegangen.

Bevor ich meine eigenen Versuche über diese Substanz mitteile, deren Anregung ich Herrn Privatdozenten Dr. Jacoby verdanke, sei vorher kurz zusammengestellt, welche Erfahrungen wir bis heute über das Schicksal der Toxine im Magendarmkanal gesammelt haben.

Die alte Erfahrungstatsache, daß die meisten Gifte bei Aufnahme per os eine weit geringere Giftigkeit besitzen als bei subkutanter oder intravenöser Injektion, hatte wohl Ransom*) zuerst auf den Gedanken gebracht, daß z. B. für das ebenfalls vom Magen aus unwirksame Tetanustoxin die Magendarmwand selbst eine giftbindende Substanz besitzen könnte. Da aber seine Versuche über eine solche Substanz in der Magendarmwand negativ blieben und er andererseits das Gift unverändert im Kote wiedergefunden haben wollte, so nahm er an, daß das Toxin den Darm unzerstört wieder verlasse.

Zu entgegengesetzten Ergebnissen kamen dann eine Reihe von Autoren, indem sie eine Giftzerstörung im Magendarmkanal feststellten und daran anschließend erörterten, inwiefern die Fermente des Verdauungstraktus zerstörend auf die Toxine einwirken. Ich erwähne hier die Arbeiten von Nencki, Sieber und Schumoff-Simonowsky**) und von Carrière***), die alle die Verdauungsfermente, besonders das Trypsin und die Galle, als Giftzerstörer gegenüber dem Diphtherie- und Tetanustoxin ansahen. Nur Cano-Brusco†) glaubt doch wieder die Darmschleimhaut selbst als Giftbinder für das Tetanustoxin verantwortlich machen zu müssen.

Zu dieser Gruppe giftzerstörender Substanzen gehört auch wohl noch die Galle infolge ihrer Eigenschaft, Schlangengift unwirksam zu machen††), wenn es auch noch nicht klargestellt ist, ob die Galle in ähnlicher Weise wirkt, wie die Verdauungssäfte gegenüber dem Diphtherie- und Tetanustoxin oder ob es sich hier um eine spezifisch antitoxische Eigenschaft der Galle handelt.

Haben die bisher angeführten Versuchsergebnisse ein in der Wandung des Verdauungstraktus befindliches spezifisches Antitoxin nicht nachweisen können, so sind dem gegenüber zwei positive Resultate anzuführen: Es sind das die von Weinland†††) gefundenen Antikörper gegen die den Toxinen verwandten proteolytischen Fermente: Pepsin und Trypsin. Weinland fand, daß Extrakte von Magen und Dünndarm antipeptische und antitryptische Eigenschaft besitzen, sodaß sie z. B. Fibrin vor der

*) Deutsche med. Wochenschr. 1898, Nr. 8.

) Centralbl. f. Bakt. **23, 1898. 840, und Zeitschr. f. physiol. Chemie Heft 2/3, 1902.

***) Ann. Pasteur **13**, 1899, 435.

†) Maly, Jahresb. **31**, 914.

††) Fraser, cit. nach Centralbl. f. Bakt., **23**, 40.

†††) Zeitschr. f. Biol. **44**, 1902.

Einwirkung von Pepsin und Trypsin zu schützen vermögen, und zwar haben sowohl Magen- wie Dünndarmextrakt jedes für sich die Fähigkeit, Pepsin und Trypsin unwirksam zu machen.

Wie weit die von Matthes*), Pugliese und Coggi**) und Hahn***) gefundene schützende Wirkung der Blutkörperchen bezw. des Blutserums gegen die Pepsin- und Trypsin-Verdauung gleichfalls auf der Wirkung spezifischer Antifermente beruht, wie es Weinland deutet, sei hier nicht näher erörtert. Dagegen seien von den Antifermenten noch zwei angeführt, die wegen ihrer Hitzebeständigkeit besonderes Interesse verdienen: Moll†) fand bei Untersuchungen über den Antikörper gegen das vom Micrococcus ureae gebildete Harnstoffferment eine Antiwirkung auch im normalen Serum und Harn des Kaninchens, und zwar ist dieses normale Antiferment im Gegensatz zu dem durch Immunisierung gewonnenen hitzebeständig. Ferner konnte Korschun††) die schon von Hammarsten u. a. beobachtete Tatsache bestätigen, daß normales Pferdeserum die Labgerinnung der Milch hemmt. Gleichzeitig fand er außer diesem normalen Antilab noch eine zweite labhemmende Substanz im normalen Ziegen- und Pferdeserum, die sich von der ersten durch verschiedene chemisch-physikalische Eigenschaften, besonders aber auch durch ihre Hitzebeständigkeit unterscheidet.†††)

Während die bisher angeführten Substanzen sich teils giftzerstörend, wie die Verdauungssäfte, teils nur als Antikörper gegen die normaler Weise im Körper vorkommenden Fermente erwiesen, so haben die Untersuchungen der letzten Jahre doch auch schon eine Reihe von Substanzen im normalen Organismus zu Tage gefördert, die im Sinne der Antitoxine gegenüber der Wirkung der echten Toxine eine giftneutralisierende Eigenschaft besitzen. Unberücksichtigt lasse ich dabei diejenigen Organe, die nur als Ganzes oder als Organbrei giftbindende Eigenschaften besitzen (wie das Gehirn für das Tetanustoxin), bei denen also die Organfiltrate unwirksam sind. Von denjenigen Organen, deren Antisubstanz auch in Lösung ihre Wirksamkeit behält, verdient das normale Blutserum an weitaus erster Stelle genannt zu werden. Dieses hat sich schon für eine Reihe von Toxinen als Fundstätte spezifischer Antitoxine erwiesen.

So fand u. a. Wassermann*†) Antitoxine gegen das Diphtheriegift im Serum gesunder Erwachsener, d. h. solcher Personen, die niemals nach-

---

*) Münch. med. Wochenschr., 1902, Nr. 1.

**) Maly, Jahrb. 1897, 832.

***) Berl. klin. Wochenschr. 1897, Nr. 23.

†) Beitr. z. chem. Physiol. **2**, 344 (1902).

††) Zeitschr. f. phys. Chemie, 1902.

†††) An dieser Stelle sei jedoch auf die neueste Arbeit Cohnheims (Zeitschr. f. phys. Chemie **42**, Heft 4) aufmerksam gemacht, deren Resultat vielleicht einmal für die Beurteilung aller solcher Antifermente von Interesse werden kann. Cohnheim zeigte nämlich, daß eine zu reichliche Menge des Pankreasaktivators, anstatt das glykolytische Muskelferment zu aktivieren, es an der Wirkung hindert und ferner, daß eine scheinbar antiglykolytische Wirkung des Blutes dadurch vorgetäuscht werden kann, daß der auch im Blute befindliche Aktivator sich bei zu reichlicher Anwesenheit mit dem Pankreasaktivator zu einer unwirksamen Menge addiert.

*†) Zeitschr. f. Hygiene **19**, 1895.

weislich an einer Hals- oder Rachenaffektion gelitten hatten, und ferner Antitoxine im Serum Neugeborener in relativ großen Mengen, wie auch Fischl und v. Wunschheim*) bestätigten. Cobbett**) fand dann auch im normalen Pferdeserum Diphtherieantitoxin. Aus der Reihe der in normalen Seris vieler Tierarten und des Menschen beschriebenen Antikörper nenne ich das von Neißer und Wechsberg***) gefundene Antistaphylolysin und Antileucocidin, das Anticolilysin Kaysers†), ferner das von A. Fraenkel††) gefundene Antiagglutinin des Ricins im Barbenserum. Auch gegen das Schlangengift fanden Phisalix und Bertrand†††) in normalen Seris vieler Tierspezies ein Antitoxin.

Schließlich sei unter den Serumantikörpern noch erwähnt, daß schon Elfstrand*†) in seiner grundlegenden Arbeit über die Wirkungsweise des Crotins sowohl ein Antiricin als auch ein Anticrotin im normalen Blutserum fand, und zwar wirkte das Schweineserum besonders stark gegen Crotin, während sich im Kaninchenserum fast keine Spur einer Antiwirkung nachweisen ließ. In noch stärkerem Maße als das Serum besitzt das Plasma des Schweineblutes diese abschwächende Wirkung (Kaninchenplasma ohne eine solche). Es bietet dies vielleicht eine interessante Deutung für die Tatsache, daß nach Elfstrand Schweine eine im Verhältnis zu ihrem Körpergewicht dreimal so große Dosis von Crotin vertragen als Kaninchen, und daß eine intravenöse Applikation keine giftigere Wirkung ausübt als eine subkutane.

Dieser relativ großen Reihe von Antikörpern im normalen Serum steht bis heute nur eine sehr geringe Anzahl von löslichen Antikörpern in normalen Organen gegenüber. Gleichzeitig mit Jacobys Auffindung des Anticrotins in der Magenwand ist es auch Kraus und Lipschütz**†) gelungen, in normalen Organfiltraten giftbindende Substanzen, also lösliche Antikörper nachzuweisen. So konnten sie in einer größeren Reihe von Organen (Leber, Niere, Gehirn, Milz und Knochenmark) von mehreren Tierarten (Kaninchen, Tauben, Hühnern, Meerschweinchen, Pferden und Menschenleichen) Antihämolysine nachweisen, welche die Wirkung des Staphylolysins, des Hämolysins des B. Megatherium und des Hämolysins des Vibrio Naskin aufzuheben vermochten. In einem wesentlichen Punkte unterscheiden sie sich aber sofort von dem Anticrotin Jacobys, das ja zunächst auch nur auf seine antihämolytische Eigenschaft geprüft war: Die Kraus-Lipschützschen Antihämolysine sind nicht kochbeständig, sondern gehen bei 70° zu Grunde.

Bei dieser Zusammenstellung wurden die baktericiden und agglutinierenden Substanzen, die Antikörper niederer Lebewesen, sowie die durch Autolyse von Organen gewonnenen giftneutralisierenden Substanzen (Blum***†) nicht berücksichtigt.

---

*) Prager med. Wochenschr. 1895, Nr. 45 u. ff.
) Centralbl. f. Bakt. **26, 1899.
***) Zeitschr. f. Hygiene **36**, 1901.
†) Zeitschr. f. Hygiene **42**, 1903.
††) Beitr. z. chem. Physiol. **4**, 224 (1903).
†††) Soc. biol. **48**, 396 (1896).
*†) Upsala, 1897. Über giftige Eiweiße.
**†) Wiener klin. Wochenschr. 1903, Nr. 35.
***†) Beitr. z. chem. Physiol. **5**, 3 u. 4.

Meine eigenen Untersuchungen über den von Jacoby gefundenen Antikörper in der normalen Magenschleimhaut des Schweines (Pseudoanticrotin) betreffen folgende Punkte:

1. chemische Eigenschaften des Antikörpers;
2. seine Verbreitung im Tierkörper;
3. seine Beziehung zum Immunanticrotinhämolysin;
4. wirkt er im Tierkörper als Antitoxin?

I.

Nachdem nochmals festgestellt war, daß der mittels der Buchnerschen Methode hergestellte Preßsaft aus der Magenschleimhaut des Schweines die Auflösung der roten Blutkörperchen des Kaninchens durch das Crotin hemmte und identisch ist mit dem in das künstliche Pepsinpräparat (Grübler) übergegangenen Antikörper, wurde in den weiteren Versuchen in der größten Mehrzahl der Fälle der bequemeren und zugänglicheren Handhabung wegen mit diesem künstlichen Präparate gearbeitet. Es besitzt nur die eine störende Eigenschaft, die übrigens dem zuletzt bezogenen Präparate Grüblers fehlte, den Farbstoff der roten Blutkörperchen in größeren Dosen stark zu verändern (braun bis gelbbraun). Es stellte sich aber bald heraus, daß diese Farbstoffmodifikation durch die stark sauere Reaktion der betreffenden Präparate bedingt war. Durch Neutralisation mit verdünnter Sodalösung kann man diese störende Eigenschaft leicht vermeiden. In einer großen Reihe von Versuchen, die mit Magenpreßsaft und Grüblerschem Pepsin angestellt wurden, fand ich dann stets, entsprechend den Jacobyschen Untersuchungsergebnissen, daß bei tüchtigem Aufkochen der Antikörper seine volle Wirksamkeit behält. Sogar ein längeres Kochen (bis zu 10 Minuten) hatte noch keine wesentliche Abschwächung hervorgerufen. Auch mit einem andern künstlichen Pepsinpräparate (Pepsin Witte) konnte dieselbe antihämolytische Wirkung erzielt werden, wenn auch erst in bedeutend stärkerer Dosis. Tabelle I mag dies verdeutlichen.

Alle Hämolyseversuche wurden mit einer 5proz. Blutkörperchenaufschwemmung angestellt. Das Blut wurde der Carotis eines Kaninchens entnommen, defibriniert, das Serum durch zweimaliges Waschen mit 0,9proz. Kochsalzlösung mit Hilfe der Zentrifuge entfernt und die Blutkörperchen dann mit physiologischer Kochsalzlösung (0,9proz.) auf eine 5proz. Aufschwemmung gebracht. Ferner ist zu bemerken, daß sämtliche Versuchsröhrchen stets auf die gleiche Kochsalzkonzentration gebracht wurden.

Tabelle I.

In allen Röhrchen $^1/_2$ ccm Crotinlösung (1 pro Mille) + 1 ccm Blutkörperchenaufschwemmung (5proz.).

	Grübler-Pepsin 1 Proz.	Grübler-Pepsin $^1/_4$ Proz.	Witte-Pepsin 1 Proz.	Witte-Pepsin 10 Proz.
0,0	Hämol. kompl.	Hämol. kompl.	Hämol. kompl.	Hämol. kompl.
0,1	Hämolyse = 0	Starke Hämol.	Starke Hämol.	Hämolyse
0,2				
0,3		Schwächere Hämolyse		
0,4				Spur Hämol.
0,5				
0,6				Hämol. fast 0
0,7				
0,8		Hämol. fast 0		
0,9				Hämolyse = 0
1,0				

Es sei jedoch bemerkt, daß unter der Bezeichnung Hämolyse = 0 in den Crotin-Anticrotinröhrchen nicht zu verstehen ist, daß überhaupt keine Veränderung des Blutes eingetreten sei; eine der Agglutination sehr ähnliche Veränderung der mit Crotin behandelten Blutkörperchen konnte durch den Antikörper nicht vermieden werden. Dieser selbst veranlaßte jedoch, wie aus Kontrollröhrchen hervorging, eine solche Erscheinung nicht.

1. Wirkung des mit Alkohol behandelten Pepsins.

Um die Eigenschaften des Antikörpers näher zu studieren, wird Pepsin zunächst mit Alkohol behandelt. In einem Vorversuch werden 0,5 g Pepsin Grübler in Alkohol unter leichtem Erwärmen zu lösen versucht und das Ganze filtriert. In der alkohollöslichen Fraktion wird durch Verdampfen der Alkohol verjagt und der Rückstand in 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Diese Fraktion übt keine Spur einer antihämolytischen Wirkung aus. Der alkoholunlösliche Filterrückstand wird gleichfalls in 50 ccm Kochsalz gelöst und so eine 1proz. Lösung hergestellt. Diese erweist sich als vollkommen wirksam.

Im folgenden wurde dann untersucht, ob der Antikörper aus wässerigen Lösungen mit Alkohol fällbar ist. Zu diesem Zwecke werden 300 ccm einer 1proz. Pepsinlösung mit 600 ccm Alcohol abs. versetzt. Der ausfallende weiße Niederschlag wird abfiltriert und der Filterrückstand nach Waschen mit Alkohol wieder in 300 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Der so mit Alkohol gefällte und in Kochsalzlösung gelöste Niederschlag zeigt sich

stark wirksam (siehe Tabelle II). Der Antikörper wird also durch die doppelte Menge von Alkohol scheinbar ungeschädigt und unverringert ausgefällt. Bei dieser Fällung tritt auch im nicht neutralisierten Präparat eine Veränderung des Blutfarbstoffes nicht mehr ein.

Tabelle II.

In allen Röhrchen 1 ccm Crotinlösung (1 pro Mille) + 1 ccm Blutkörperchenaufschwemmung.

Antikörper.	
0,0	Hämolyse.
0,1 0,2	Spur Hämolyse.
0,3 0,4 0,5 0,6 1,0	Hämolyse = 0.

In einer größeren Anzahl von Wiederholungsversuchen wurde dieses Resultat bestätigt, und zwar wurde dabei der Antikörper teils mit der doppelten, teils mit der zehnfachen Menge Alcohol abs. ausgefällt. Bei letzterer Darstellung fallen noch eine Reihe von Substanzen aus, die bei nur doppeltem Alkoholzusatz noch in Lösung bleiben. Da jedoch der Antikörper sich in beiden Versuchsanordnungen gleich wirksam erweist, so wird er schon durch die doppelte Menge Alkohol ganz ausgefällt.

Einmal wurde kein wirksamer Niederschlag erhalten und zwar in einem Falle, bei dem die Pepsinlösung vor der Alkoholfällung nicht gekocht war. Auch stellte es sich heraus, daß die Haltbarkeit des so behandelten Antikörpers eine recht ungleiche war, oft nur mehrere Tage währte, ohne daß es gelang, in einer Reihe daraufhin angestellter Versuche die Faktoren zu ermitteln, die für dieses wechselnde Verhalten verantwortlich zu machen waren. Das Aufbewahren der Präparate teils bei Zimmertemperatur, teils im Eisschrank, war ohne Einfluß auf das frühere oder spätere Unwirksamwerden. Eine Anzahl solcher unwirksam gewordener Präparate machte dann selbst Hämolyse. In diesen Fällen dürfte es sich wohl um blutkörperchenlösende Stoffe gehandelt haben, die erst später im Präparat auftraten, vielleicht in Folge von Fäulnisprozessen.

In der gleichen Weise wird der Magenpreßsaft mit Alkohol behandelt. Auch hier erweist sich der durch Alkohol ausfallende und in physiologischer Kochsalzlösung gelöste Niederschlag als voll

wirksam. Da der Niederschlag sich jedoch nicht völlig löst, wird das Präparat nochmals filtriert. Auch dieses Filtrat ist fast ebenso wirksam.

2. Behandlung mit Äther.

0,2 g fein gepulvertes Pepsin (Grübler) werden mit 50 ccm Äther auf mäßig erwärmtem Wasserbad tüchtig verrührt und dann filtriert. Der klebrige Filterrückstand wird in 20 ccm 0,9proz. Kochsalzlösung gelöst. Der so mit Äther behandelte Antikörper erweist sich, wie auch in Wiederholungsfällen, als voll wirksam. Die farbstoffverändernde Eigenschaft des Pepsinpräparates ist unter dieser Behandlung nicht verschwunden.

3. Behandlung mit Aceton.

0,2 g fein gepulvertes Pepsin werden wieder auf dem Warmwasserbad in 50 ccm Aceton etwa 5 Minuten tüchtig verrührt und dann filtriert. Der in 20 ccm gelöste Filterrückstand gibt starke Anticrotinwirkung (siehe Tabelle III).

Tabelle III.

In allen Röhrchen $^1/_2$ ccm Crotin (1 pro Mille) + 1 ccm Blutkörperchenaufschwemmung (5proz.).

Pepsin	
nach Ätherbehandlung	nach Acetonbehandlung
0,0 Hämolyse komplett	Hämolyse komplett
0,2 Starke Hämolyse	Geringe Hämolyse
0,4, 0,6, 0,8 Hämolyse fast 0	Hämolyse fast 0
1,0 Hämolyse = 0	Hämolyse = 0

Auch zwei Versuche, in denen der Antikörper durch Aceton bzw. durch Äther aus einer schon vorher mit Alkohol behandelten Lösung gefällt wird, führen zu dem gleichen Resultat, nämlich daß der Antikörper in Alkohol, Äther und Aceton unlöslich ist.

4. Aussalzen mit Ammonsulfat und Dialyseversuch.

Die folgenden Versuche hatten den Zweck, zu untersuchen, ob und in welcher Konzentration der Antikörper durch Ammonsulfat aussalzbar ist und wie derselbe sich Dialysiermembranen gegenüber verhält. Als Beispiel mag folgender Versuch dienen: 20 ccm Pepsinlösung 1proz. werden durch Zufügen von 200 ccm gesättigter Ammonsulfatlösung und weiteren Zusatz von Ammonsulfat in Substanz ganz gesättigt und dann filtriert.

Um einerseits das Ammonsulfat zu entfernen, andererseits gleich das Verhalten des Antikörpers bei der Dialyse kennen zu lernen, wird der Filterrückstand samt dem Filter in ein Dialyseröhrchen eingefüllt und in stehendem destilliertem Wasser bei zweimaligem Wechseln desselben 45 Stunden lang der Dialyse ausgesetzt. Es befinden sich nach dieser Zeit 13 ccm Flüssigkeit im Dialyseröhrchen, die durch Zusatz von 1,3 ccm einer 10proz. Kochsalzlösung auf eine Konzentration von 0,9 Proz. Kochsalz gebracht werden. Das so behandelte Pepsinpräparat behält seine starke Anticrotinwirkung ungeschwächt bei und hat den Vorteil, auch ohne vorherige Neutralisation den Farbstoff der roten Blutkörperchen nicht zu verändern. Die Haltbarkeit des Präparates scheint gegenüber dem mit Alkohol gefällten bedeutend besser zu sein. Wenigstens war auch in den nach vier Wochen daraufhin untersuchten Präparaten eine Abschwächung der Wirkung nicht zu konstatieren.

Von Interesse war es, festzustellen, ob der Antikörper, analog den Protoalbumosen, auch schon bei Zusatz von 60proz. gesättiger Ammonsulfatlösung ausgesalzen werden könnte. Mehrere zu diesem Zwecke angestellte Versuche, in denen der Aussalzung ebenfalls stets die Dialyse angeschlossen wurde, ergaben keine gleichbefriedigenden Resultate, wie bei der Ganzsättigung. Fällt bei Zusatz von Ammonsulfat in 60proz. Sättigung schon nur ein sehr geringer Niederschlag aus, so erweist sich derselbe nach der weiteren Behandlung auch nicht als völlig wirksam, wenngleich eine deutliche Anticrotinwirkung unverkennbar ist. Diese Tatsache erlaubt wohl die Folgerung, daß zwar schon bei 60proz. gesättigtem Ammonsulfatzusatz ein Teil des Antikörpers ausgesalzen wird, daß man aber erst bei Ganzsättigung sicher ist, die vollwirksame Substanz zu erhalten.

5. Einwirkung des Pepsins auf den Antikörper.

In den nächsten Versuchen wurde die Einwirkung des Pepsinfermentes auf den Antikörper geprüft. Da wir ein künstliches Pepsinpräparat als Ausgangsmaterial für den Antikörper benützten, so war es jetzt nur nötig, das Ferment in diesem zu aktivieren. Dies geschah durch Zusatz von Salzsäure und Einwirkenlassen bei Brutschranktemperatur.

20 ccm Pepsinlösung (1proz.) werden mit $^1/_2$ ccm einer 1proz. Salzsäure beschickt und ins Ostwaldsche Wasserbad (Temperatur konstant 37,2°) gebracht. Nach einem fünfstündigen Aufenthalt in diesem wird die Lösung mittels verdünnter Sodalösung genau neutralisiert (Reagens: Lackmus) und dann auf Anticrotinwirkung

geprüft. Dieselbe ist noch ebenso stark wie vorher. Der Antikörper wird durch Pepsin nicht verdaut. Um zu prüfen, ob man durch Pepsinverdauung den Antikörper von Begleitsubstanzen befreien könnte, wurde ein Vergleichsversuch angestellt, in dem zwei genau gleiche Mengen von Pepsinlösung (1 proz.) die eine sofort, die andere erst nach Aktivierung des Pepsins (Zusatz von 0,5 ccm Salzsäure von 1 Proz., sechsstündiger Aufenthalt im Ostwaldschen Wasserbad, dann Neutralisation) mit der gleichen Menge Alkohol behandelt werden. Es fällt in beiden Lösungen ein gleich großer Niederschlag aus. Durch die Pepsinverdauung sind also wenigstens sichtbare Mengen von Substanz in dem Grüblerschen Präparate nicht verändert worden. Eine Reihe von Wiederholungsversuchen bestätigen das Intaktbleiben des Antikörpers durch die Pepsinverdauung. Bei einem Versuche, bei dem der Brutschrankaufenthalt länger ausgedehnt war, ergab sich eine abgeschwächte Wirkung des Antikörpers. Um eine Beeinflussung durch diesen Faktor ausschließen zu können, wurden genau gleiche Mengen von Pepsin nach Aktivierung des Ferments verschieden lange Zeit der Einwirkung der Brutschranktemperatur ausgesetzt. Ein Unterschied in der Wirksamkeit dieser Präparate konnte nicht festgestellt werden.

Tabelle IV.

In allen Röhrchen ½ ccm Crotin (1 pro Mille) + 1 ccm Blutkörperchen (5 proz.). Antikörper nach Pepsinverdauung.

Einwirkung 5 Stdn.		21 Stdn.		45 Stdn.	
0,0	Hämolyse komplett		Hämolyse komplett		Hämolyse komplett
0,2	Hämolyse = 0		Hämolyse = 0		Hämolyse = 0
0,4					
0,6					
0,8					
1,0					

Daß der Zusatz der Salzsäure allein keinen Einfluß auf den Antikörper haben konnte, war nach diesen positiven Resultaten ja schon vorauszusehen. Zum nochmaligen strikten Beweis wurde einer gekochten Pepsinlösung (Ferment also jetzt unwirksam) Salzsäure zugesetzt. Auch hier war nach mehrstündigem Verweilen des Gemisches im Brutschrank und nachheriger Neutralisation der sauren Lösung der Antikörper voll wirksam.

Ich fasse die bisherigen Resultate nochmals kurz zusammen: Die Eigenschaften des im künstlichen Pepsinpräparate (Grübler, Witte), sowie in der Magenschleim-

haut des Schweines nachgewiesenen Antikörpers gegen das Hämolysin des Crotins sind also mit Einbeziehung der schon von Jacoby gemachten Angaben folgende: Die fragliche Substanz ist kochbeständig, wirkt bei neutraler, sowie bei schwach alkalischer oder schwach saurer Reaktion. Sie wird durch die doppelte Menge von Alkohol gefällt, ist in Äther, sowie in Aceton unlöslich, wird bei Ganzsättigung mit Ammonsulfat vollständig, bei 60proz. Sättigung unvollständig ausgesalzen. Durch Pepsin-Salzsäure, sowie durch längere Einwirkung der Brutschranktemperatur wird sie nicht angegriffen. Sie ist nicht dialysierbar.

6. Isolierungsversuch.

Nachdem so die Haupteigenschaften des Antikörpers bekannt waren, wurden die bisher einzeln vorgenommenen Prüfungen nunmehr gemeinsam an einem und demselben Ausgangsmaterial angewandt, teils zur nochmaligen Kontrolle der bisher gefundenen Resultate, teils um auf diese Weise einen möglichst reinen Antikörper zu erhalten. Die Art und Reihenfolge dieser Darstellung sei im einzelnen mitgeteilt: 100 ccm einer 1proz. Pepsinlösung werden tüchtig gekocht und nach der Abkühlung mit der doppelten Menge Alkohol versetzt. Der entstehende Niederschlag wird abfiltriert, mit Alkohol gewaschen, der Filterrückstand in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst. Dieses Präparat, das starke Anticrotinwirkung zeigt, wird mit 1 Liter Ammonsulfatlösung und dann bis zur Ganzsättigung mit Ammonsulfat in Substanz versetzt. Der Niederschlag wird abfiltriert und 42 Stunden dialysiert. Der 20 ccm betragende Schlauchinhalt wird auf 0,9 Proz. Kochsalzkonzentration gebracht und nach Prüfung seiner unverminderten Wirksamkeit, auch bei fünffacher Verdünnung (um dadurch dieselbe Konzentration herzustellen, wie diejenige der anfänglichen Pepsinlösung), der Einwirkung von 0,35 ccm Salzsäure (1proz.) bei sechsstündigem Brutschrankaufenthalt ausgesetzt. Nach der Neutralisation wird der Rest von 17 ccm zum zweiten Mal mit 40 ccm Alcohol abs. versetzt und der abfiltrierte Niederschlag wieder in Kochsalzlösung gelöst. Da dieses Präparat ebenfalls bei fünffacher Verdünnung sich noch deutlich, aber doch abgeschwächt wirksam erweist, wird der Rest von 4 ccm nur aufs vierfache verdünnt und nochmals mit Alkohol gefällt. Dieser bei der dritten Alkoholfällung im Gegensatz zu den ersten beiden sehr geringe Niederschlag wird nun tüchtig mit Äther gewaschen und in Kochsalz gelöst. Dieses so gereinigte Präparat besitzt

zwar noch eine Anticrotinwirkung, aber doch in erheblich geringerem Maße.

Tabelle V.

In allen Röhrchen $^1/_2$ ccm Crotin (1 pro Mille) + 1 ccm Blutkörperchen. Pepsin-Präparat (bei stets derselben Konzentration wie das Ausgangsmaterial):

Ausgangsmaterial Pepsin 1 Proz.	Vor der zweiten Alkoholfällung	Nach der zweiten Alkoholfällung	Nach der dritten Alhoholfällung und Ätherwaschung
0,0 Hämol. kompl.	Hämol. kompl.	Hämol. kompl.	Hämol. kompl.
0,2	Hämol. gering	Hämol. stark	Hämol. stark
0,4			
0,6 Hämol. = 0	Hämolyse = 0	Spur Hämolyse	Spur Hämol.
0,8		Hämol. fast 0	Hämol. fast 0
1,0			

Daher wird in einer zweiten Darstellungsreihe die 2. und 3. Alkoholfällung übergangen. Diesmal zeigt das auf die Anfangskonzentration gebrachte derart gereinigte Material dieselbe Wirkung wie die Ausgangssubstanz.

Es zeigt sich sowohl bei derselben wie auch bei der dreifach so starken Konzentration als das Ausgangsmaterial weder eine Spur einer Biuretreaktion noch eine Reaktion mit Jodjodkalilösung, während die ursprüngliche Pepsinlösung beide Reaktionen deutlich ergibt.

II.

Es galt nun zu untersuchen, ob der in der Magenschleimhaut gefundene Antikörper einzig und allein in diesem Organ seinen Sitz hat oder ob und wie weit er auch in andern Organen verbreitet ist. Als Versuchsobjekte dienten anfänglich Kaninchenorgane, die einem gut ausgebluteten Tier entnommen und in der Weise behandelt wurden, daß man sie möglichst fein zerhackte und sie dann durch Zusatz der vierfachen Menge physiologischer Kochsalzlösung zu einer Organemulsion verarbeitete. Mit diesen so hergestellten Präparaten war es jedoch nicht möglich, einen irgendwie einwandfreien Hämolyseversuch anzustellen, da die spezifisch schwereren Organemulsionen die roten Blutkörperchen mechanisch mit sich rissen, und das Ausbleiben der Hämolyse durch die der Einwirkung des Crotins so entzogenen Erytrocythen erklärt werden konnte. Daß das Filtrat der Emulsionen unwirksam war, konnte bei der Annahme einer festeren Verbindung zwischen Antikörper und Organzelle einerseits und der unge-

nügenden Verarbeitung bei dieser Methode andererseits nicht auffällig sein. Da das Buchnersche Verfahren bei der Kleinheit der Kaninchenorgane nur sehr schwierig anzuwenden gewesen wäre, so ging man wieder zu Organen des Schweins über, dessen Magen sowie dessen Serum und Blutplasma sich ja schon als Sitz von normalen Antikörpern gegen das Crotin erwiesen hatten.

Von den daraufhin geprüften Organen seien erst die negativ ausgefallenen Leberuntersuchungen erwähnt. Die Herstellung eines Leberpreßsaftes geschah nach Buchner in der bekannten Weise, daß man ein Stück frischer Schweinsleber nach tüchtigem Zerhacken durch Zerreiben mit Quarzsand und Kieselgur und unter Zusatz einer kleinen Menge physiologischer Kochsalzlösung zu einer zähen Masse verarbeitete, aus der sich mit Hilfe der Buchnerschen Presse ein dunkelbrauner Lebersaft auspressen ließ. Da dieser unverdünnt sich seiner dunklen Farbe und seiner etwas dicken Konsistenz wegen nicht ohne weiteres zu einem Hämolyseversuch verwenden ließ, wurde er bei fünffacher Verdünnung geprüft. Eine antihämolytische Wirkung war in keinem Röhrchen erkennbar. Auch wenn man den Preßsaft erst kochte, den entstehenden Niederschlag abfiltrierte und nun das Filtrat auf seine Anticrotinwirkung untersuchte, erwies sich dieses nicht als wirksam. Ebenso negativ fielen die Versuche mit der Prüfung eines durch die dreifache Menge von Alcohol abs. gefällten und in Kochsalzlösung gelösten Niederschlages aus. Nirgends konnte die durch Crotin eintretende Hämolyse der roten Kaninchenblutkörperchen gehemmt werden.

Die erste Vermutung bei diesem negativen Ergebnis war die, daß es sich in diesem speziellen Falle um die Anwesenheit von besonderen Hämolysinen in der Schweinsleber handle und daß dadurch die Wirkung eines eventuell doch vorhandenen Anticrotins hintangehalten oder wenigstens dessen sichtbare Wirkung verdeckt werden könnte. Diese Vermutung war um so berechtigter, als Korschun und Morgenroth*), gestützt auf frühere Untersuchungen Metschnikoffs, Shibajamas und Terrassewiths, in einer großen Reihe von Organextrakten hämolysierende Substanzen gefunden hatten. Sie waren zu dem Resultat gekommen, daß die Extrakte von Magen und Darm der Maus sowie Magen von Meerschweinchen und Pankreas der Rinder alle Blutarten hämolysieren, während andere Organe ihre hämolytischen Eigenschaften nur auf ganz bestimmte Blutarten ausübten. Außerdem sind diese Hämolysine, was für unsere Versuche besonders wichtig

*) Berl. klin. Wochenschr. 1902, Nr. 37.

war, nach Untersuchungen Korschun und Morgenroths koktostabil. Die negativen Ergebnisse mit Leberpreßsaft ließen sich jedoch bei unserer Art des Vorgehens nicht auf die Anwesenheit solcher Hämolysine zurückführen. Brachte man den Preßsaft allein mit Kaninchenblut zusammen, so trat niemals Hämolyse ein. Ich will gleich hier hinzufügen, daß auch in den anderen auf die Anwesenheit von Anticrotin geprüften Organen des Schweines sich niemals Hämolysine gegen Kaninchenblut nachweisen ließen, sodaß dieser Faktor als Ursache für die negativen Ergebnisse nicht in Betracht kommt.

Das nächste auf Anticrotinanwesenheit geprüfte Organ war der Darm des Schweines. Zu dieser Untersuchung wird die an der Oberfläche gereinigte Schleimhaut des Schweinedünndarms von ihrer Unterlage abpräpariert und nach der Buchnerschen Methode verarbeitet. Zur Prüfung der Wirksamkeit dieses ersten gelbrötlichen Preßsaftes werden wieder in einer Reihe von Röhrchen je $^1/_2$ ccm Crotin (1 proz.) + 1 ccm Blutkörperchenaufschwemmung (5 proz.) mit steigenden Mengen desselben zusammengebracht (0,1 bis 2,0 ccm). Es tritt zwar nirgends Hämolyse ein; doch da beim Stehen aus dem Darmsaft ein dicker Niederschlag ausfällt, so ist die Möglichkeit nicht auszuschließen, daß durch diesen die Blutkörperchen mechanisch mit niedergerissen werden und sich so der Einwirkung des Crotins entziehen. Der Preßsaft wird daher gekocht und der sich bildende dicke Niederschlag abfiltriert. Das klare Filtrat wird zur weiteren Prüfung verwandt. Bei zwei so dargestellten Präparaten, die aus zwei verschiedenen Därmen hergestellt werden, ergibt wiederholte Prüfung eine deutliche Anticrotinwirkung. Bei genügend hoher Dosierung bleibt die Hämolyse entweder fast ganz aus, oder sie tritt gegenüber den Kontrollröhrchen, die nur Crotin enthalten, deutlich verspätet ein. Es ist demnach wohl sicher im Darm ein kochbeständiger Antikörper gegen das Crotinhämolysin vorhanden, aber in wesentlich geringerer Menge als im Magen. Bei 20 mal so hoher Dosis, als man vom Magenantikörper zur Neutralisation des Crotins nötig hatte, war die Wirkung noch nicht ganz so stark. (Höhere Dosierung wurde nicht angewandt.) Da die Möglichkeit aber bestand, daß der Antikörper den Organzellen besonders fest anhafte (etwa analog dem Weinlandschen Antipepsin und Antitrypsin) wurden auch die durch eine zweite Pressung gewonnenen Darmsäfte untersucht. Beim Kochen fiel diesmal ein wesentlich geringerer Niederschlag aus als beim ersten Preßsaft. Die Wirkung war dementsprechend auch entschieden schwächer, wenn auch noch deutlich antihämolytisch.

Tabelle VI.

In allen Röhrchen 1/2 ccm Crotin (1 pro Mille) + 1 ccm Blutkörperchen (5 proz.)

	1. Preßsaft	2. Preßsaft
0,0	Hämolyse komplett	Hämolyse komplett
0,4	Spur Hämolyse	Starke Hämolyse
0,6		
0,8	Hämolyse fast 0	Schwächere Hämolyse
1,0		
1,5		Geringe Hämolyse
2,0		Spur Hämolyse

Darnach scheint der Antikörper den Zellen nicht besonders fest anzuhaften. Ob er aber auch in den Darm sezerniert wird, läßt sich natürlich aus dieser Tatsache noch nicht folgern. Vielleicht könnte man an Tieren mit Darmfisteln darüber Aufschluß erhalten.

Um zu entscheiden, ob der Antikörper auch im künstlichen Trypsinpräparat vorhanden ist (analog dem künstlichen Pepsin), wurde vom Grüblerschen Trypsinpräparate eine 1 proz. Lösung hergestellt (mit physiologischer Kochsalzlösung) und diese auf ihre antihämolytische Wirksamkeit geprüft. Die Versuche fielen aber bei der gekochten Lösung, die allein maßgebend sein konnte, völlig negativ aus.

Auch aus der Lunge wurde nach Buchners Methode ein Preßsaft hergestellt, der ebenfalls wegen seiner braunen Farbe und dem sich beim Stehen bildenden Niederschlag für einen Hämolyseversuch ungeeignet war. Es wurde daher wiederum das nach dem Kochen erhaltene klare Filtrat benützt. Auch hier war bei genügender Dosierung eine hemmende Wirkung gegenüber dem Crotin unverkennbar. Doch scheint die Menge des Antikörpers in der Lunge noch geringer zu sein als im Darm.

Tabelle VII.

In allen Röhrchen 1/2 ccm Crotin (1 pro Mille) + 0,5 ccm Blutkörperchen.

	Lungenpreßsaft.
0,0	Hämolyse komplett
0,2	Starke Hämolyse
0,4	
0,6	Geringere Hämolyse
0,8	Hämolyse gering
1,0	Spur Hämolyse.
1,5	
2,0	
2,5	

Kurz zusammengefaßt folgt also aus diesen Untersuchungen, daß außer im Magen auch im Darm in geringerer Menge und noch geringer in der Lunge sich ein Antikörper gegen die Crotinwirkung findet, daß in der Leber dagegen nichts von einem solchen nachweisbar ist. Mit dieser verschieden reichlichen Anwesenheit des Antikörpers in den einzelnen Organen fällt auch wohl ein Einwand fort, den man vielleicht erheben könnte. Da ja schon durch Elfstrand (loc. cit.) bekannt ist, daß im Serum und noch mehr im Plasma des Schweineblutes der Antikörper sich relativ recht reichlich vorfindet, so wäre ja a priori denkbar, daß der in den Preßsaft übergehende Antikörper nicht speziell den Organen angehört, sondern nur ein Bestandteil des in ihnen enthaltenen Blutes sei.

Dagegen spricht aber wohl entschieden, daß gerade in den besonders blutreichen Organen (Lunge, Leber) der Antikörper in geringeren Mengen, bzw. überhaupt nicht nachweisbar ist.

III.

War die Wirkung des Magenantikörpers gegen die Crotinhämolyse durch zahlreiche Versuche sichergestellt, so blieb es doch noch von besonderem Interesse, zu prüfen, wie dieser natürliche Antikörper sich bezüglich seiner Wirkung zu dem künstlichen, durch Immunisierung gewonnenen verhält. Zu diesem Zwecke wurden Kaninchen mit steigenden Dosen Crotin subkutan gespritzt. (Von 1 mg Crotin angefangen jeden 6. bis 10. Tag, d. h. bis zur annähernden Restitution des durch die Injektion hervorgerufenen Gewichtsverlustes um einige mg steigend bis zu 3 cg.) Nach einigen Wochen wurde dieses Immunserum auf seine Wirksamkeit geprüft. Während normales Kaninchenserum keine oder höchstens eine Spur Anticrotinwirkung besitzt, gelang es so in relativ kurzer Zeit ein Serum zu gewinnen, das in einer Verdünnung von 1 : 200 starke und noch in einer Verdünnung von 1 : 1000 geringe, aber immer noch deutliche antihämolytische Wirkung hatte. Bei den einzelnen Tieren, auch derselben Spezies, scheinen jedoch große Verschiedenheiten der Disposition vorhanden zu sein. Konnte ich schon die Beobachtung Jacobys auch nach meinen Erfahrungen vollauf bestätigen, daß die Blutkörperchen der Kaninchen außerordentlich verschieden für die Crotinhämolyse disponiert sind (in einigen Fällen war sogar nahezu völlige Unempfindlichkeit vorhanden), so reagierten auch die Tiere sehr wechselnd auf Crotininjektionen. Während bei zwei Tieren nach jeder Giftzufuhr prompte Gewichtsabnahme und nach einigen Tagen wieder langsame Erholung eintrat, reagierte

ein drittes Tier nur ganz unwesentlich auf diesen Eingriff. Dementsprechend war das Serum dieses sogar mit größeren Dosen und längere Zeit behandelten Tieres weit weniger wirksam. Nur ein zehnfach verdünntes Serum hatte noch starke Anticrotinwirkung. Um festzustellen, ob der Magenantikörper in seiner Wirkung dem Antikörper des Immunserums entspricht, wurde untersucht, ob unzureichende Mengen Immunserum durch an sich unzureichende Mengen des Magenantikörpers zu wirksamen Gemischen ergänzt werden können. Dieser Nachweis wurde durch mehrere Additionsversuche erbracht, von denen folgender als Beispiel mitgeteilt sei:

In einer größeren Reihe von Toxin-Antitoxinröhrchen wurde die unterste neutralisierende Dosis sowohl für Pepsin als für Immunserum festgestellt. Die Hälfte dieser beiden Dosen hemmte die Crotinhämolyse noch nicht. Ließ man nun aber diese beiden halben Neutralisationsdosen gemeinsam auf das Crotin einwirken, so trat keine Hämolyse ein. Es schien sogar, als ob die beiden Antikörper bei gemeinsamer Einwirkung sich nicht nur addierten, sondern sogar noch verstärkten. Als Beispiel diene folgender Versuch:

Tabelle VIII.

1.	0,4 ccm	I.-Serum	(1:10) + 0,5	Crotin	(1‰) + 1	ccm	Blutk.:	Häm. = 0.
	1,2 „	Pepsin	(1‰) + 0,5	„	(1‰) + 1	„	„	„ = 0.
2.	0,1 „	I.-Serum	(1:10) + 0,5	„	(1‰) + 1	„	„	„ stark.
	0,6 „	Pepsin	(1‰) + 0,5	„	(1‰) + 1	„	„	„ „
3.	0,1	I.-Ser. + 0,6	Pepsin + 0,5	„	(1‰) + 1	„	„	„ = 0.
4.	0,1	I.-Ser. + 0,5	„ + 0,5	„	(1‰) + 1	„	„	„ = 0.

Aus diesem Versuchsbeispiel folgt also: Zwei an sich unwirksame Dosen von Pepsin- und Serumantikörpern sind bei Addierung wirksam. Es geht aber noch weiter aus diesem Beispiel hervor, daß nicht nur zwei unwirksame halbe Dosen sich zu einer wirksamen ganzen vereinigen können, sondern, wie Reihe 4 zeigt, sich bei gemeinsamer Einwirkung sogar verstärken; denn hier wurde der vierte Teil der gerade noch wirksamen Dosis I.-Serum mit weniger als der Hälfte der gerade noch wirksamen Pepsindosis zu einer wirksamen Antikörperwirkung vereinigt.

IV.

Bisher war bei allen Versuchen nur in vitro die antihämolytische Eigenschaft des normal vorhandenen Antikörpers gegen das Crotin geprüft worden. Von einer gleichzeitig vorhandenen antitoxischen Eigenschaft war dagegen noch nichts bekannt. Die

zu dieser Prüfung angestellten Versuche stießen zunächst auf die Schwierigkeit, daß das Crotin im Gegensatz zum Ricin und Abrin nicht sehr giftig für Tiere ist. Infolge der hohen letalen Dosis hätte auch dementsprechend die Antikörperdosis so hoch gewählt werden müssen, daß das Resultat nicht mehr ganz einwandfrei gewesen wäre. Mäuse und Frösche schienen mir noch am geeignetsten für derartige Versuche.

Bei Mäusen, die übrigens dem Crotin gegenüber auch sehr verschieden empfindlich sind, blieben diese Versuche ohne Beweiskraft, da die für die Giftneutralisation notwendigen Pepsindosen allein schon die Tiere vergifteten, auch wenn man gekochtes Pepsin verwandte.

Von Fröschen war Rana temporaria empfindlicher als die Rana esculenta; aber auch für die Temporaria konnte bei den Dosen, die wir in Anwendung brachten (bis 0,03 g Crotin), eine für alle Tiere giltige Dosis letalis nicht gefunden werden. Frösche waren auch deshalb geeignet, weil sie von den zur Anwendung gekommenen gekochten Pepsindosen unbeeinflußt blieben. Dennoch konnte bei den Tieren keinerlei antitoxische Wirkung beobachtet werden, obwohl sie ein 1 Stunde vor der Injektion hergestelltes Gemisch aus Crotin- und Pepsindosen eingespritzt erhielten, die um ein Bedeutendes die für die Hemmung der Hämolyse notwendigen Mengen überschritten. Es kann daher als sichergestellt gelten, daß dem Pepsinpräparat eine irgendwie erhebliche und der antihämolytischen Wirkung vergleichbare antitoxische Eigenschaft gegenüber dem Crotin nicht zukommt.

Lebenslauf.

Ich, Franz Alexander Lust, wurde am 28. Juli 1880 als Sohn des Kaufmanns Martin Lust, jüdischer Konfession, zu Frankfurt a. M. geboren. Ich besuchte das dortige Realgymnasium „Wöhlerschule“ und erwarb dort das Zeugnis der Reife im Herbste 1898 und weiterhin, durch Privatstudien vorbereitet, auch das Reifezeugnis eines Gymnasiums zu Dillenburg. Oktober 1898 bezog ich die Universität Heidelberg und wurde in der medizinischen Fakultät inskribiert. Ich bestand nach vier Semestern die ärztliche Vorprüfung und besuchte darauf zwei Semester die Universität München und ein Semester die Universität Berlin. Zu Beginn des Sommersemesters 1902 kehrte ich nach Heidelberg zurück und bestand am 4. Februar 1904 die ärztliche Prüfung. Kurz darauf trat ich zur Ableistung des praktischen Jahres in die dortige medizinische Klinik ein und erhielt nach Befreiung von der Ableistung desselben am 28. März 1904 die ärztliche Approbation.